



بررسی رشد و پرآوری پایه GN15 با کاربرد تنظیم کننده‌های رشدی و مواد قندی در شرایط درون شیشه‌ای

سحر توپچی زاده تبریزیان^{۱*}، امید اسدی اقدم^۱، جلیل دژم پور^۲، فاطمه فتاحی^۱ و سیما یدی^۱

۱- پژوهشگر شرکت کشت بافت آردا، تبریز.

۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی، تبریز

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۲۱

چکیده

پایه یکی از عوامل اصلی در تعیین سازگاری نهال با شرایط محیطی و میزان مقاومت آن در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌باشد. در این مطالعه تأثیر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی شامل سایتوکینین به دو شکل BAP و KIN (در غلظت‌های ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر)، اکسین به شکل NAA (در غلظت‌های ۰ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر) و جیبرلیک اسید (در غلظت‌های ۰، ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر) و تأثیر نوع مواد قندی شامل ساکارز، گلوکز و سوربیتول (هر کدام در غلظت‌های ۱۵، ۳۰ و ۴۵ میلی گرم در لیتر) در ریز ازدیادی دورگ هلو بادام GN15 مورد بررسی قرار گرفت. پس از استقرار و رشد ریز نمونه‌ها، صفاتی از قبیل میزان پرآوری، تعداد شاخه، رشد طولی شاخساره، تعداد برگ و رشد طولی ریشه اندازه‌گیری شد. با بررسی مقایسه میانگین داده‌ها، حداکثر میزان پرآوری با استفاده از BAP در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر همراه با GA در غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر مشاهده گردید. بیشترین تعداد برگ در گیاهان تحت تیمار ۲ میلی گرم در لیتر BAP همراه با ۱ میلی گرم در لیتر GA، در غیاب هورمون NAA حاصل شد. برای ارتقاء رشد طولی شاخساره و ریشه، تیمار تغذیه‌ای با ساکارز (۳۰ گرم در لیتر) بالاترین کارایی را از خود نشان داد. به‌طور کلی میزان پرآوری و تعداد برگ عمدتاً تحت تأثیر ترکیبات هورمونی (BAP یا KIN به همراه GA) قرار می‌گیرد. در حالی که رشد طولی شاخساره و ریشه عمدتاً با استفاده از ساکارز افزایش پیدا می‌کند. واژگان کلیدی: اکسین، دورگ هلو بادام، ساکارز، سایتوکینین، سوربیتول و کشت درون شیشه‌ای.

Evaluation of growth and proliferation of GN15 rootstock using growth regulators and sugars Under *in vitro* Conditions

Sahar Toupchizadeh Tabrizian^{1*}, Omid Asadi Aghdam¹, Jalil Dejampour², Fatemeh Fatahi¹ and Sima Yedi¹

1- Researcher of Arda Tissue Culture Company, Tabriz.

2- Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Agricultural and Natural Resources Research Center of East Azerbaijan Province, Tabriz.

Received: September 2025

Accepted: February 2026

Abstract

Rootstock is one of the main factors in determining the seedling's adaptation to environmental conditions and its resistance to biotic and abiotic stresses. In this study, the effect of plant growth regulators including cytokinin in two forms, BAP and KIN (at concentrations of 1 and 2 mg/L), auxin in the form of NAA (at concentrations of 0 and 0.1 mg/L), and gibberellic acid (GA3) (at concentrations of 0, 0.5, and 1 mg/L), and the effect of the type of sugars including sucrose, glucose, and sorbitol (each at concentrations of 15, 30, and 45 mg/L) were investigated in the micropropagation of the peach-almond hybrid GN15. After establishment and growth of the micro-samples, traits such as proliferation rate, number of branches, shoot elongation, number of leaves, and root elongation were measured. By comparing the mean data, the maximum proliferation rate was observed using BAP at a concentration of 2 mg/L along combined with GA at a concentration of 0.5 mg/L. The highest number of leaves was achieved in plants treated with 2 mg/L BAP along combined with 1 mg/L GA, in the absence of the NAA hormone. To promote shoot and root elongation, nutritional treatment with sucrose (30 g/L) showed the highest efficacy. In general, the rate of proliferation and number of leaves are mainly affected by hormonal compounds (BAP or KIN combined with GA), while shoot and root elongation is mainly increased by the use of sucrose.

Keywords: Auxin, Peach-almond hybrid, Sucrose, Cytokinin, Sorbitol and *In Vitro* culture.

۱- مقدمه

در فرآیندهای فیزیولوژیکی زیادی از قبیل توسعه کلروپلاست، کنترل غالبیت انتهایی در شاخه، جلوگیری از پیری، تحریک شاخه‌زایی و تمایزیابی برگ‌ها و لپه‌ها نقش دارند (Abu-*Romman et al.*, 2015). ۶-بنزیل‌آمینوپورین^۴ (BAP) و کینتین^۵ (KIN) سایتوکینین‌هایی آروماتیکی هستند که تنها تفاوت آنها در جایگزینی آدنین در موقعیت N-6 با حلقه‌ی بنزیل و یا حلقه‌ی فورفورال می‌باشد و این جایگزینی منجر به ایجاد فعالیت‌های بیولوژیکی منحصر به فردی برای هر سایتوکینین می‌گردد (Kanokporn and Chonnikarn, 2016). هورمون اکسین یکی از مهمترین عوامل موثر در تحریک ریشه‌زایی به حساب می‌آید که دو نوع از اکسین‌ها شامل نفتالین استیک اسید^۶ (NAA) و ایندول-۳-بوتیریک اسید^۷ (IBA) که اهمیت زیادی در فرآیند ریشه‌زایی دارند. بافت‌ها و اندام‌های گیاهی به منظور تأمین انرژی به کربوهیدرات نیاز دارند. فرآیندهای ریشه‌زایی و شاخه‌زایی در صورت وجود منبع کربوهیدرات کافی به خوبی تحریک می‌گردد (Eerfani *et al.*, 2013). عمدتاً ساکارز به عنوان یک کربوهیدرات در کشت بافت استفاده می‌شود. استفاده از سوربیتول به عنوان یک منبع کربوهیدرات در کشت بافت سیب، هلو و گلابی گزارش شده است (Eerfani *et al.*, 2013). بهینه‌سازی روش‌های ریز ازدیادی برای گونه‌های مختلف تیره گل سرخیان^۸ هنوز یکی از مهمترین چالش‌های محققین این حوزه می‌باشد. هدف از مطالعه اخیر بررسی تأثیرات متقابل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی شامل انواع مختلف سایتوکینین (KIN و BAP)، اکسین (IBA و NAA) و جیبرلیک اسید^۹ (GA) و تأثیر نوع ماده قندی (ساکارز، گلوکز و سوربیتول) در رشد و پرآوری پایه GN15 می‌باشد.

پایه یکی از عوامل اصلی در تعیین سازگاری نهال با شرایط محیطی و میزان مقاومت آن در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌باشد (Doaa *et al.*, 2021). اغلب پایه‌های مورد استفاده برای درختان میوه هسته دار در ایران از نوع بذری بوده و ارقامی که روی این پایه‌ها پیوند زده می‌شوند به دلیل تاثیر متقابل پایه و پیوندک، از نظر صفاتی مثل میزان قدرت رشدی و مقاومت به آفات و بیماری‌ها متفاوت بوده و این امر باعث بروز مشکلاتی از قبیل کوتاهی عمر، خشکیدگی و رشد غیر یکنواخت درختان می‌شود. در پایه‌های رویشی درختان میوه هسته‌دار که به روش غیر جنسی ازدیاد می‌یابند، خصوصیات گیاه اولیه بطور کامل انتقال می‌یابد (گنجی مقدم و همکاران، ۱۴۰۰). پایه GN15 که به پایه گارنم^۱ مشهور است، دارای برگ‌های قرمز رنگ می‌باشد. این پایه دورگ بین گونه‌ای حاصل تلاقی پایه بادام گارفی^۲ به عنوان والد مادری با پایه هلوی نمارد^۳ به عنوان گرده دهنده بوده که در کشور اسپانیا معرفی گردیده است (Arab *et al.*, 2016). پایه GN15 دارای عادت رشدی قوی و زود بارده بوده و به دلیل مقاومت نسبی به شرایط شوری، خشکی، ماندابی، کمبود آهن، نماتد و بیماری‌های قارچی مناسب برای هر دو مناطق آبی و دیمی می‌باشد (Arab *et al.*, 2018). ارقام مختلف هلو، شلیل، بادام، زردآلو و حتی آلوی ژاپنی بر روی این پایه قابل پیوند زدن می‌باشند (Barani Sorkhalizheh and Yadolahi, 2018). تکثیر این پایه از طریق قلمه‌زنی به دلیل پایین بودن میزان ریشه‌زایی در سطح وسیع دشوار بوده و بهترین روش تکثیر این پایه‌ها روش کشت بافت گیاهی می‌باشد (Wegayehu *et al.*, 2017).

سایتوکینین و اکسین به عنوان دو نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی رایج در کشت بافت گیاهان می‌باشند. سایتوکینین‌ها شامل گروه بزرگی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی هستند که

⁶ Naphthyl acetic acid.

⁷ Indole-3-butyric acid.

⁸ Rosacea.

⁹ Gibberellic acid.

¹ Garnem rootstock.

² Garfi' almond.

³ Nemared peach.

⁴ Benzylaminopurine-6.

⁵ Kinetin.

محاسبه و به صورت درصد بیان گردید)، تعداد شاخساره، طول شاخساره و تعداد برگ اندازه گیری شد.

ارزیابی در قالب دو آزمایش مجزا اجرا گردید. آزمایش اول به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه عامل (تنظیم کننده‌های رشد گیاهی) سایتوکینین به دو شکل BAP و KIN (در غلظت‌های ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر)، اکسین به شکل NAA (در غلظت‌های ۰ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر) و جیبرلیک اسید (در غلظت‌های ۰، ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر) در سه تکرار (هر واحد آزمایشی شامل پنج ریز نمونه) اجرا گردید و بعد از گذشت ۶۰ روز صفاتی از قبیل میزان پرآوری، تعداد شاخساره، رشد طولی شاخساره و تعداد برگ اندازه‌گیری شد. آزمایش دوم به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه عامل ساکارز، گلوکز و سوربیتول (هر کدام در غلظت‌های ۱۵، ۳۰ و ۴۵ میلی گرم در لیتر) در سه تکرار (هر واحد آزمایشی شامل پنج ریز نمونه) انجام گردید (به طور پیش فرض در همه واحدهای آزمایشی برای تحریک رشد شاخساره از BAP با غلظت یک میلی گرم در لیتر و برای تحریک ریشه‌زایی از NAA با غلظت یک میلی گرم در لیتر استفاده شد) و صفاتی از قبیل رشد طولی شاخساره و رشد طولی ریشه مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌های حاصل از این آزمایش، توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گردید.

(شکل‌های ۱ و ۲). حداقل میزان پرآوری با استفاده از KIN در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر به همراه NAA در غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر در صورت کاربرد هورمون GA (تیمارهای ۸ و ۹) به دست آمد. در تیمارهایی که BAP در غلظت بالا (۲ میلی گرم در لیتر) در ترکیب با GA با هر غلظتی (۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر) استفاده شد میزان پرآوری گیاهان را افزایش داد. گیاهان کشت شده در محیط حاوی KIN در ترکیب با NAA در غلظت بالا (۰/۱ میلی گرم در لیتر) میزان پرآوری پایینی از خود نشان دادند. در آزمایشی که توسط دژمپور و همکاران (Dejampour et al., 2011) بر روی پایه

مطالعه حاضر در سال ۱۴۰۴ در آزمایشگاه شرکت کشت بافت آردا مستقر در دهکده فناوری و نوآوری کشاورزی، منابع طبیعی و صنایع غذایی استان آذربایجان شرقی انجام شد. ابتدا شاخساره‌هایی به طول ۱۰ سانتی‌متر و قطر نیم سانتی‌متر از شاخه‌های رشد سال جاری نهال‌های مادری GN15 (عاری از هرگونه آفت و بیماری) موجود در خزانه پایه‌های مادری در اواخر فروردین ماه تهیه و به آزمایشگاه انتقال داده شد. سپس برگ‌های روی شاخه‌ها حذف و شاخه‌ها به قطعات به طول دو تا سه سانتی‌متر هر کدام حاوی یک تا دو جوانه برش زده شده و به مدت یک ساعت در زیر آب جاری قرار گرفتند. بقیه مراحل ضدعفونی به ترتیب شامل شستشو با اتانول ۷۰ درصد به مدت دو دقیقه، آبخوبی با آب مقطر استریل دو بار تقطیر سه بار و هر کدام پنج دقیقه، ضدعفونی با هیپوکلوریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه و در نهایت آبخوبی با آب مقطر استریل دو بار تقطیر سه بار و هر کدام پنج دقیقه انجام شد (Arab et al., 2016).

تمامی مراحل ضدعفونی در زیر هود لامینار صورت پذیرفت. ریز نمونه‌ها پس از کشت در محیط کشت DKW^{10} حاوی تیمارهای مختلف، در اتاق کشت در شرایط دمایی ۲۴ درجه سانتی‌گراد در روز و ۱۸ درجه سانتی‌گراد در شب با دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با شدت نوری ۳۰۰۰ لوکس قرار داده شدند. بعد از گذشت ۶۰ روز صفاتی از قبیل درصد پرآوری (بر اساس ریزنمونه‌هایی که تولید شاخساره جانبی داشتند نسبت به کل ریز نمونه‌ها

۳- نتایج و بحث

۳-۱- میزان پرآوری

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که کاربرد تنظیم کننده‌های رشدی تأثیر معنی‌داری بر میزان پرآوری دورگ هلو بادام GN15 در بین تیمارهای مختلف در سطح احتمال پنج درصد دارد. با بررسی میانگین داده‌ها (جدول ۲) حداکثر میزان پرآوری با استفاده از BAP در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر همراه با GA در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر (تیمارهای ۱۷ و ۲۳) مشاهده گردید

¹⁰ Driver and Kuniyuki Walnut.

سایتوکینین‌ها پیام‌های خود را از در گیاهان یافت می‌شود طریق گیرنده‌هایی به نام پروتئین‌های کیناز هیستیدین انتقال می‌دهند. عمدتاً بیش از یک نوع گیرنده سایتوکینین (Kanokporn and Chonnikarn, 2016). با افزایش غلظت هورمون BAP در محیط کشت، میزان پرآوری شاخساره‌ها در ریز ازدیادی.

در رقم هلو بادام HS314 انجام شد هورمون BAP در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر میزان پرآوری را به طور معنی‌داری افزایش داد که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. سایتوکینین‌ها در رشد و پرآوری شاخساره‌ها موثر بوده و باعث تقسیم و توسعه سلول‌ها می‌شوند. با کنترل عوامل موثر بر فرآیند تقسیم سلولی تنظیم سرعت این تقسیمات، رشد جوانه‌های جانبی را تنظیم می‌نمایند (پیوندی و همکاران، ۱۳۸۷). در این زمینه،

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات متقابل تنظیم کننده های رشدی مختلف بر رشد و پرآوری دورگ هلو بادام GN15.

میانگین مربعات					
منبع تغییرات	درجه آزادی	میزان پرآوری (%)	تعداد شاخساره	رشد طولی شاخساره	تعداد برگ
سایتوکینین	۳	۱۱۶۸/۳*	۴/۱*	۴۲۷/۴*	۵۱/۷*
اکسین	۱	۹۵/۲*	۱۲*	۱۸۴/۳ ^{ns}	۹۸/۴*
جیبرلیک اسید	۲	۲۲۴/۸*	۰/۳۶۳*	۱۵۵/۴ ^{ns}	۳۵*
سایتوکینین × اکسین	۳	۲۸۷/۶*	۰/۲۰۸ ^{ns}	۵۰/۷ ^{ns}	۸/۵ ^{ns}
سایتوکینین × جیبرلیک اسید	۶	۸۵/۵*	۱/۸۶*	۳۵/۹ ^{ns}	۱۸/۴*
اکسین × جیبرلیک اسید	۲	۶۰*	۵/۱۹*	۵۴/۱*	۱۵/۹*
سایتوکینین × اکسین × جیبرلیک اسید	۶	۶۲/۴*	۴/۳۶*	۲۰*	۱۰/۸*
خطا	۴۸	۰/۰۹	۰/۰۹	۱۲۸	۱۱۶۸/۲

ns معنی دار نیست، * معنی داری در سطح احتمال پنج درصد.

محیط کشت این گیاهان چند شاخه‌ای به گیاهان بالغ تبدیل شدند. KIN در ترکیب با NAA نقش هم‌افزایی در پرآوری گیاهان ایفاء می‌کند (Kanokporn and Chonnikarn, 2016).

انگور افزایش یافت (Nadra et al., 2015). نتایج آزمایش نشان داد که در گیاه انگور استفاده از BAP در ترکیب با NAA تولید ساقه‌های چند شاخه‌ای نموده ولی شاخه‌ها کوچک و توسعه نیافته بودند که با اضافه نمودن KIN به

بررسی رشد و پرآوری پایه GN15 با کاربرد تنظیم کننده‌های رشدی و مواد قندی در شرایط درون شیشه‌ای

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنظیم کننده‌های رشدی مختلف بر رشد و پرآوری دورگ هلو بادام GN15.

تعداد برگ	رشد طولی شاخساره (سانتیمتر)	تعداد شاخساره	میزان پرآوری (%)	تنظیم کننده های رشد (میلی گرم در لیتر)			شماره تیمار
				NAA	GA	KIN	
				NAA	GA	BAP	
۴/۴ ^c	۱/۰ ^c	۵/۹ ^{ab}	۷۶/۴ ^{de}	۰	۰	۱	۱
۶/۴ ^b	۱/۳ ^{ab}	۳/۹ ^{bc}	۷۳/۵ ^{ef}	۰	۰/۵	۱	۲
۵/۵ ^{bc}	۱/۳ ^{ab}	۴/۳ ^{bc}	۸۱/۳ ^{bcd}	۰	۱	۱	۳
۳/۶ ^c	۰/۷ ^d	۵/۸ ^{ab}	۹۱/۰ ^{abc}	۰	۰	۲	۴
۷/۶ ^a	۱/۳ ^{ab}	۵/۵ ^{ab}	۸۲/۳ ^{bcd}	۰	۰/۵	۲	۵
۶/۸ ^{ab}	۱/۱ ^{bc}	۵/۷ ^{ab}	۸۲/۳ ^{bcd}	۰	۱	۲	۶
۵/۳ ^{bc}	۰/۷ ^d	۲/۱ ^c	۸۴/۲ ^{bc}	۰/۱	۰	۱	۷
۴/۹ ^{bc}	۱/۰ ^c	۵/۲ ^{ab}	۶۵/۱ ^f	۰/۱	۰/۵	۱	۸
۶/۱ ^b	۱/۱ ^{bc}	۴/۸ ^{bc}	۶۶/۹ ^f	۰/۱	۱	۱	۹
۵/۶ ^{bc}	۰/۸ ^{cd}	۵/۹ ^{ab}	۷۷/۲ ^{def}	۰/۱	۰	۲	۱۰
۷/۰ ^{ab}	۱/۳ ^{ab}	۳/۳ ^{bc}	۷۲/۸ ^{ef}	۰/۱	۰/۵	۲	۱۱
۶/۸ ^{ab}	۰/۷ ^d	۵/۷ ^{ab}	۶۹/۰ ^{ef}	۰/۱	۱	۲	۱۲
				NAA	GA	BAP	
۵/۰ ^{bc}	۰/۸ ^{cd}	۵/۳ ^{ab}	۸۳/۶ ^{bcd}	۰	۰	۱	۱۳
۶/۶ ^b	۱/۰ ^c	۴/۸ ^{bc}	۷۶/۷ ^{de}	۰	۰/۵	۱	۱۴
۷/۱ ^{ab}	۱/۱ ^{bc}	۴/۶ ^{bc}	۸۳/۴ ^{bcd}	۰	۱	۱	۱۵
۵/۳ ^{bc}	۱/۴ ^a	۵/۴ ^{ab}	۹۲/۲ ^{abc}	۰	۰	۲	۱۶
۶/۱ ^b	۰/۹ ^{cd}	۶/۳ ^a	۹۶/۳ ^a	۰	۰/۵	۲	۱۷
۸/۲ ^a	۱/۰ ^c	۴/۴ ^{bc}	۸۸/۷ ^{bc}	۰	۱	۲	۱۸
۴/۷ ^{bc}	۰/۹ ^{cd}	۲/۹ ^c	۹۴/۱ ^{ab}	۰/۱	۰	۱	۱۹
۵/۸ ^{bc}	۱/۰ ^c	۳/۷ ^{bc}	۸۲/۵ ^{bcd}	۰/۱	۰/۵	۱	۲۰
۶/۷ ^b	۱/۲ ^{bc}	۴/۷ ^{bc}	۸۵/۱ ^{bc}	۰/۱	۱	۱	۲۱
۵/۰ ^{bc}	۱/۴ ^a	۵/۰ ^b	۹۱/۹ ^{abc}	۰/۱	۰	۲	۲۲
۶/۸ ^{ab}	۱/۰ ^c	۴/۲ ^{bc}	۹۷/۲ ^a	۰/۱	۰/۵	۲	۲۳
۶/۸ ^{ab}	۱/۱ ^{bc}	۴/۶ ^{bc}	۹۳/۹ ^{ab}	۰/۱	۱	۲	۲۴



شکل ۱- در صد پرآوری دورگ هلو بادام GN15 تحت تیمار تنظیم کننده‌های رشدی (میلی گرم در لیتر) شامل $BAP=2+GA=0.5+NAA=0.1$.

۳-۲- تعداد شاخساره

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که کاربرد تنظیم کننده‌های رشدی تأثیر معنی‌داری بر تعداد شاخساره دورگ هلو بادام GN15 در بین تیمارهای مختلف در سطح احتمال پنج درصد دارد. مقایسه میانگین‌های مربوط به صفت تعداد شاخساره و تیمارها (جدول ۲) نشان داد که بیشترین تعداد شاخساره در صورت استفاده از BAP در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر همراه با GA در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بدون ترکیب با NAA در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر (تیمار ۱۷) مشاهده گردید (شکل ۲). کمترین تعداد شاخساره در تیمارهایی که در آن‌ها از KIN در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر به همراه GA در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر استفاده گردید (تیمارهای ۷ و ۹) مشاهده شد. در تیمارهایی که در آن‌ها از سایتوکینین‌های BAP و یا KIN در غلظت‌های پایین (۱ میلی‌گرم در لیتر) و NAA در غلظت بالا (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) استفاده گردید تعداد شاخساره به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. تأثیر بازدارندگی هورمون NAA مربوط به نقش آنتاگونیستی آن با هورمون

سایتوکینین در فرآیند اندام‌زایی می‌باشد. راوونیاریسون و همکاران (Ravoniarison and Ephrem, 2014) گزارش نمودند که وجود هورمون NAA تأثیر هورمون سایتوکینین بر تمایز یابی سلول‌ها در شاخساره را کاهش می‌دهد که با نتایج این آزمایش هم‌خوانی دارد. نتایج به دست آمده نشان داد که علی‌رغم اینکه هر دو نوع سایتوکینین مورد استفاده از مشتقات آدنیلی هستند (Kanokporn and Chonnikarn, 2016)، با این وجود استفاده از BAP در ترکیب با GA در مقایسه با ترکیب KIN در ترکیب با GA تعداد شاخساره بیستری را تولید نماید. کالینینا و براون (Kalinina and Brown, 2007) طی پژوهشی اعلام نمودند که نوع و غلظت سایتوکینین در شاخه‌زایی مؤثر بوده و در صورت استفاده از GA، هورمون BAP تأثیر بیشتری در شاخه‌زایی دارد که با نتایج حاصل از این آزمایش مطابقت دارد. از دلایل تأثیرات BAP در شاخه‌زایی می‌توان به توانایی آن در متابولیزه شدن در بافت‌های گیاهی و همچنین تحریک سایر هورمون‌های داخلی مؤثر در ریشه‌زایی گیاهان اشاره نمود (Wegayehu *et al.*, 2017).



شکل ۲- در صد پرآوری و تعداد شاخساره دورگ هلو بادام GN15 تحت تیمار تنظیم کننده‌های رشدی (میلی‌گرم در لیتر) شامل $GA=0/5+NAA$ و $BAP=2$.

۴ و ۱۲) به دست آمد. برخلاف اینکه هورمون BAP مستقل از ترکیب با هورمون GA قادر به افزایش رشد طولی شاخساره بود، در تیمارهایی که از هورمون KIN بدون ترکیب با هورمون GA استفاده گردید طول شاخساره‌ها به طور نسبی کاهش پیدا کرد. به عبارتی هورمون KIN جهت افزایش طول شاخساره نیاز به نقش هم افزایی هورمون GA دارد. جیبرلین علاوه بر افزایش کشش پذیری دیواره سلولی، نشاسته موجود در واکوئل سلول را به قند هیدرولیز نموده و بدین ترتیب از طریق کاهش پتانسیل آب سلول باعث ورود مقدار زیادی آب به داخل سلول و طول شدن آن می‌گردد. علاوه بر آن، جیبرلین رشد گیاه و فاصله میانگره را افزایش داده و از این طریق نیز باعث افزایش طول شاخساره‌ها می‌شود (صالحی ساردویی و حسن پور اصیل، ۱۴۰۰). اضافه کردن GA به محیط کشت تأثیر مثبتی در افزایش رشد طولی ساقه نشان داد که با نتایج آزمایش همخوانی دارد. سایتوکینین‌هایی نظیر KIN که باعث افزایش پرآوری شاخساره می‌شوند تأثیر کمتری در افزایش رشد طولی شاخساره دارند. این امر احتمالاً به دلیل توزیع منابع گیاه بین رشد شاخساره‌ها و تشکیل اندام‌های جدید می‌باشد به عبارتی می‌توان نتیجه گرفت با کاربرد تنظیم کننده‌های رشدی که در پرآوری شاخساره مؤثر می‌باشند، گیاه بیشتر انرژی خود را جهت ظهور شاخساره‌های جدید مصرف نموده و از رشد طولی شاخه‌های نو پدید کاسته

علاوه بر آن، سنتز RNA و پروتئین‌هایی را که در فرآیندهای تقسیم سلولی و شل شدن دیواره سلولی دخیل هستند را افزایش می‌دهد (Nadra *et al.*, 2015). مقادیر جزئی هورمون اکسین باعث می‌شود هورمون سایتوکینین فرآیندهای تقسیم سلولی و سایتوکینین^{۱۱} را تحریک نماید و سلول‌ها خصوصیات مریستمی جهت باززایی به خود بگیرند (Ravoniarison and Ephrem, 2014).

۳-۳- رشد طولی شاخساره

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که کاربرد تنظیم کننده‌های رشدی تأثیر معنی‌داری بر رشد طولی شاخساره دورگ هلو بادام GN15 در بین تیمارهای مختلف در سطح احتمال پنج درصد دارد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) نشان داد گیاهانی که با هورمون BAP با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر بدون استفاده از هورمون GA (تیمارهای ۱۶ و ۲۲) تیمار گردیدند حداکثر رشد طولی شاخساره را از خود نشان دادند (شکل ۳). کمترین میزان رشد طولی شاخساره در تیمارهای حاوی KIN با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر به همراه NAA در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بدون استفاده از هورمون GA (تیمار ۷) و KIN در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر به همراه GA در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر بدون استفاده از هورمون‌های GA و NAA (تیمارهای

^{۱۱}Cytokinesis.

می‌شود. در حالی که در تیمارهایی که شاخه‌زایی را کمتر تحریک می‌نمایند اغلب انرژی گیاه صرف رشد طولی شاخساره‌های موجود می‌گردد (صبورا و شکری، ۱۳۹۲).



شکل ۳- رشد طولی شاخساره دورگ هلو بادام GN15 تحت تیمار تنظیم کننده‌های رشدی (میلی‌گرم در لیتر) شامل سمت راست: $BAP=1+GA=0+NAA=0$ و سمت چپ: $BAP=2+GA=0+NAA=0$.

۳-۴- تعداد برگ

سطوح داخلی هورمون‌ها نیز رشد اندام‌های جدید را تحت تأثیر قرار می‌دهند. به طوری که در صورت وجود اکسین داخلی گیاه در سطح بالا، افزودن هورمون اکسین به محیط کشت درون شیشه‌ای موجب کاهش میزان باززایی اندام‌هایی مانند برگ می‌شود. (نجاریان و همکاران، ۱۴۰۰). تأثیرات منفی هورمون NAA در این آزمایش نیز احتمالاً در ارتباط با همین بحث می‌باشد. هورمون GA از طریق افزایش تقسیم و توسعه سلولی تعداد برگ‌ها را افزایش می‌دهد (صالحی ساردویی و حسن پور اصیل، ۱۴۰۰). احتمالاً نقش هورمون GA در تقسیم سلولی در ارتباط با تحریک هورمون سایتوکینین و تداوم چرخه سلول می‌باشد. به عبارتی دیگر، سایتوکینین‌ها با تأثیر در دو مرحله از چرخه سلولی شامل گذر از G1 به S و مرحله گذر از G2 به M باعث تداوم چرخه سلولی و افزایش رشد گیاهان می‌شوند. در مرحله اول

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که کاربرد تنظیم کننده‌های رشدی تأثیر معنی‌داری بر تعداد برگ دورگ هلو بادام GN15 در بین تیمارهای مختلف در سطح احتمال پنج درصد دارد. با بررسی میانگین داده‌ها (جدول ۲) همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود بیشترین تعداد برگ در گیاهان تیمارهای حاوی KIN با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر به همراه GA در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بدون استفاده از هورمون NAA (تیمار ۵) و همچنین BAP با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر به همراه GA در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر بدون استفاده از هورمون NAA (تیمار ۱۸) مشاهده شد. در صورت استفاده از هورمون KIN بدون حضور سایر هورمون‌ها (تیمارهای ۱ و ۴) کمترین تعداد برگ به دست آمد. استفاده از هورمون GA تأثیر مثبتی بر عملکرد هورمون سایتوکینین داشت و باعث تشکیل و توسعه برگ‌های جدید گردید. در حالی که NAA تأثیرات منفی بر عملکرد هورمون‌های سایتوکینین (BAP و KIN) در ارتباط با تشکیل برگ‌های جدید داشت. در واکنش‌های هورمونی علاوه بر آنکه یک هورمون اثر هورمون دیگر را تشدید یا خنثی می‌نماید،

بررسی رشد و پرآوری پایه GN15 با کاربرد تنظیم کننده‌های رشدی و مواد قندی در شرایط درون شیشه‌ای

می‌گردند و بدین ترتیب چرخه سلولی تداوم یافته و سلول‌ها و اندام‌های جدیدی را بوجود می‌آورند (Sischa *et al.*, 2024). نتایج حاصل از این آزمایش با مباحث فوق مطابقت دارد.

سایتوکینین‌ها از طریق فعال نمودن آنزیم‌های CDKs¹² (کینازهای وابسته به سیکلین) فسفریلاسیون سلولی را افزایش داده و در مرحله دوم با جداسازی دو مولکول فسفات از آنزیم‌های CDKs باعث فعال شدن مجدد آن آنزیم‌ها



شکل ۴- تعداد برگ دورگ هلو بادام GN15 تحت تیمار تنظیم کننده‌های رشدی (میلی گرم در لیتر) شامل $KIN=2+ GA=0.5+ NAA=0$.



شکل ۵- رشد طولی شاخساره دورگ هلو بادام GN15 تحت تیمار ساکارز در غلظت ۳۰ میلی گرم در لیتر.

از نظر آماری در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار است (جدول ۳). بیشترین میزان رشد طولی شاخساره در تیمار ساکارز به مقدار ۳۰ گرم در لیتر مشاهده شد (شکل ۵). کمترین میزان طول شاخساره در صورت استفاده از گلوکز و

۳-۵- مواد قندی

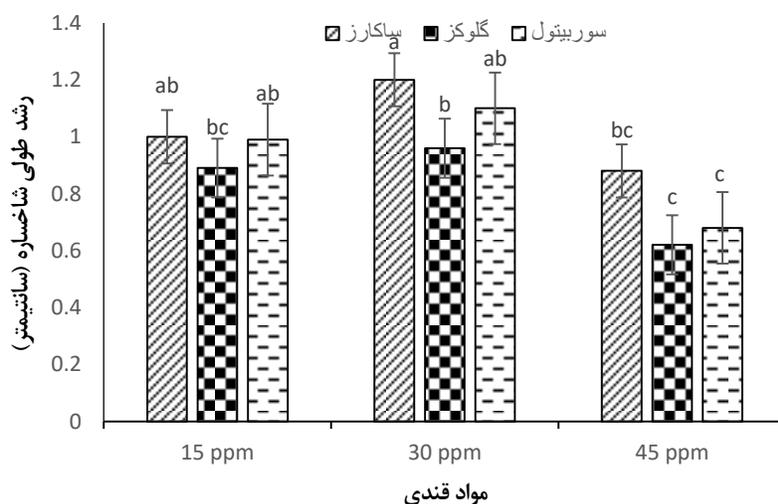
نتایج پژوهش حاضر نشان داد که طول شاخساره و ریشه تحت تأثیر نوع و غلظت‌های مختلف مواد قندی قرار گرفته و

¹² Cyclin-dependent kinases.

یا سوربیتول با غلظت ۴۵ گرم در لیتر به دست آمد. در تمامی تیمارهایی که در آنها از مواد قندی صرف نظر از نوع آن (ساکارز، گلوکز و سوربیتول) در غلظت ۴۵ گرم در لیتر جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیرات اصلی غلظت‌های مختلف انواع مواد قندی بر رشد طولی شاخساره دورگ هلو بادام GN15.

میانگین مربعات		درجه آزادی	منبع تغییرات
رشد طولی شاخساره	رشد طولی ریشه		
.ns	۲/۵*	۲	نوع قند
۰/۳*	۴/۸*	۲	غلظت
۰/۰۹*	۱/۲*	۴	نوع قند × غلظت
۰/۰۹	۰/۰۹	۱۸	خطای آزمایشی

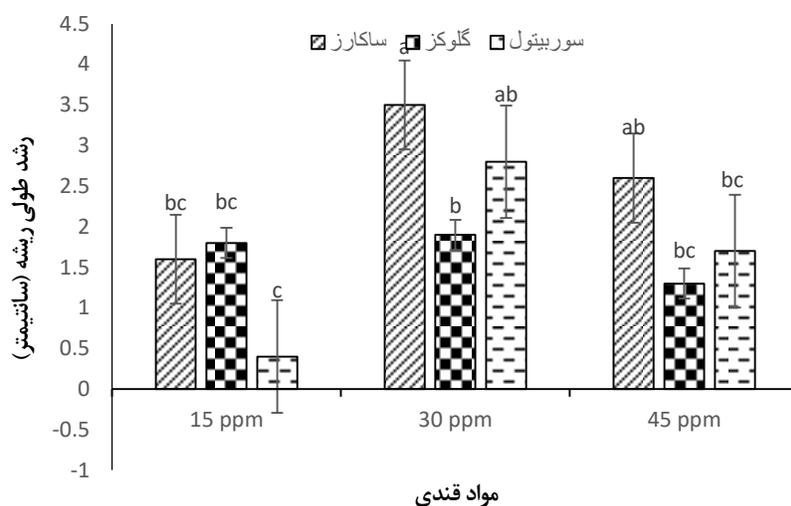
ns معنی دار نیست، * معنی داری در سطح احتمال پنج درصد.



شکل ۶- تأثیرات اصلی غلظت‌های مختلف انواع مواد قندی بر رشد طولی شاخساره دورگ هلو بادام GN15 - حروف غیرمشابه در هر ماده قندی نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار به روش دانکن در سطح پنج درصد می‌باشد. میله‌ها نشان دهنده اشتباه استاندارد است.



شکل ۷- رشد طولی ریشه دورگ هلو بادام GN15 تحت تیمار ساکارز در غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر.



شکل ۸- تأثیرات اصلی غلظت‌های مختلف انواع مواد قندی بر رشد طولی ریشه دورگ هلو بادام GN15 - حروف غیرمشابه در هر ماده قندی نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار به روش دانکن در سطح پنج درصد می‌باشد. میله‌ها نشان دهنده اشتباه استاندارد است. بالاترین کارایی را از خود نشان می‌دهد.

طول ریشه که یک صفت کیفی برای ریشه‌زایی می‌باشد به عنوان یک فاکتور مهم در میزان زنده‌مانی گیاهان در مرحله سازگاری می‌باشد (Matani Borkheyli et al., 2021). گیاهان کشت بافتی در محیط کشت توانایی اتوتروفی کاملی نداشته و نیازمند اضافه نمودن کربن و انرژی بیشتری می‌باشند. اضافه نمودن یک منبع کربن به محیط کشت به

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان رشد طولی ریشه در تیمار ساکارز به مقدار ۳۰ گرم در لیتر حاصل گردید (شکل ۷). گیاهانی که در محیط کشت حاوی سوربیتول در غلظت ۱۵ گرم در لیتر قرار داشتند کمترین رشد طولی ریشه را از خود نشان دادند (شکل ۸). با توجه به نتایج فوق استنباط می‌شود که برای ارتقاء رشد طولی شاخساره و ریشه، تیمار تغذیه‌ای با ساکارز (۳۰ گرم در لیتر)

افزایش تعداد شاخساره در محیط کشت حاوی سوربیتول این است که محصول اصلی فتوسنتزی و مواد قندی قابل انتقال سوربیتول بوده که یک منبع مؤثر کربن برای پرآوری پایه‌ها و وارپته‌های مختلف گیاهانی نظیر سیب می‌باشد (Eerfani *et al.*, 2013). کادوتا و نیمی (Kadota and Niimi, 2004) گزارش نمودند که بیشترین میزان پرآوری شاخساره در حضور سوربیتول و بیشترین میزان ریشه‌زایی با استفاده از ساکارز صورت می‌گیرد.

۴- نتیجه گیری کلی

این یافته‌ها نشان می‌دهند که بهینه‌سازی جنبه‌های مختلف رشدی گیاه دورگ هلو بادام GN15 نیازمند استفاده از ترکیبات متفاوت است. به طوریکه میزان پرآوری و تعداد برگ عمدتاً تحت تأثیر ترکیبات هورمونی (BAP یا KIN) به همراه (GA) قرار می‌گیرد در حالی که رشد طولی شاخساره و ریشه به طور معنی‌داری با استفاده از ساکارز (۳۰ گرم در لیتر) افزایش پیدا می‌کند

میزان پرآوری سلول‌ها و باززایی شاخساره‌های جدید کمک شایانی می‌کند. غلظت ساکارز در محیط کشت بایستی به میزان کافی باشد تا نیازهای سلول‌ها جهت تقسیم و تمایز یابی را برآورده نموده و تأثیرات اسمزی منفی بر تشکیل شاخساره نگذارد (Saiqa *et al.*, 2013). مباحث فوق بیانگر آنست ساکارز نه تنها به عنوان یک منبع انرژی کربن در محیط کشت به حساب می‌آید، بلکه یک ماده اسمززا نیز تلقی می‌گردد و غلظت‌های مختلف آن یکی از فاکتورهای مهم در تحریک و رشد شاخساره‌ها می‌باشد. سوربیتول به دلیل تبدیل آنزیمی آن به فروکتوز و گلوکز به عنوان یک منبع کربن در کشت بافت کاربرد زیادی دارد. ساکارز در مقایسه با سوربیتول پتانسیل اسمزی محیط کشت را کاهش داده و با هیدراسیون سلول‌های ریشه باعث افزایش طولی ریشه‌ها می‌گردد (Matani Borkheyli *et al.*, 2021). فرآیند شاخه‌زایی بستگی به میزان فعالیت و تحریک جوانه‌های جانبی داشته و اغلب به صورت هورمونی توسط سایتوکینین‌ها کنترل می‌گردد. در گونه‌های چوبی گیاهان تیره گل سرخیان دلیل

تضاد و تعارض منافع - نویسندگان هرگونه تعارض و تضاد منافع اعم از تجاری و غیر تجاری و شخصی را که در ارتباط مستقیم یا غیر مستقیم با اثر منتشر شده است رد می‌نمایند.

فهرست منابع

- پیوندی، م.، منصف، م.، و حسینی مزینانی، م. (۱۳۸۷). ریز ازدیادی زیتون رقم دزفول. *زیست‌شناسی تکوینی*، ۱(۱)، ۳۷-۴۰.
- صالحی ساردویی، ع.، و حسن پور اصیل، م. (۱۴۰۰). اثر غلظت‌های مختلف جیبرلیک اسید و بنزیل آدنین بر برخی ویژگی‌های رشدی، فندها و رنگدانه‌های نورساختی فیکوس بنجامین. *گل و گیاهان زینتی*، ۶(۲)، ۱۰۷-۱۱۸.
- صبورا، ع.، و شگری، م. (۱۳۹۲). بررسی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر جوانه زنی و ریز ازدیادی گیاه دارویی برازمبل (*Perovskia abrotanoides*) در شرایط *in vitro*. *زیست‌شناسی گیاهی ایران*، ۵(۱۸)، ۹۵-۱۱۴.
- گنجی مقدم، ا.، آموزگار، ط.، اصغر زاده، ا.، و زمانی پور، م. (۱۴۰۰). مطالعه عوامل مؤثر بر ریز ازدیادی پایه نیمه پاکوتاه گیلاس MA × MA60. *علوم باغبانی ایران*، ۵۲(۳)، ۷۶۷-۷۷۷.
- نجاریان کرمانی، ن.، پارساییان، م.، و قسیمی حق، ز. (۱۴۰۰). تأثیر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بر ریز ازدیادی گیاه زینتی *Haworthia attenuatae* (هاورتیای گورخری). فرآیند و کارکرد گیاهی، ۱۰(۴۵)، ۱-۱۴.
- Arab, M. M., Abbas Yadollahi, A., Eftekhari, M., Ahmadi, H., Akbari, M., & Sarikhani Khorami, S. (2018). Modeling and optimizing a new culture medium for in vitro rooting of G×N15 prunus rootstock using artificial neural network genetic algorithm. *Scientific Reports*, 8, 1-18.
- Arab, M. M., Abbas Yadollahi, A., Shojaeiyan, A., & Ahmadi, A. (2016). Artificial neural network genetic algorithm as powerful tool to predict and optimize in vitro proliferation mineral medium for G × N15 rootstock. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1-16.

- Abu-Romman, S. M., Khaldoun, A. A., & Arabiyyat, A. R., (2015). Kinetin is the most effective cytokinin on shoot multiplication from cucumber. *Journal of Agricultural Science*, 7(10), 159-165.
- Barani Sorkhalizheh, S., & Yadolahi, A. (2018). The effect of different culture media on proliferation of G×N15 vegetative rootstock in Plant Form bioreactor. *3rd International & 15th Iranian Genetics Congress*.
- Dejampour, J., Majidi, I., Khosravi, S., Farhadi, S., & Shadmehr, A. (2011). In vitro propagation of HS314 rootstock (*Prunus amygdalus* × *Prunus persica*). *Hort Science*, 46(6), 928-931.
- Doaa, M. A., Gawish, M. S & Eliwa, G. I. (2021). Optimized protocol for micropropagation of cadaman and garnem peach rootstocks. *Journal of Plant Production*, 12(7), 731-735.
- Eerfani, M., Miri, S. M., & Amini, A. (2017). In vitro shoot proliferation and rooting of garnem rootstocks as influenced by basal media, plant growth regulators and carbon sources. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 18(3), 101-109.
- Kadota, M., & Niimi, Y. (2004). Influences of carbon sources and their concentrations on shoot proliferation and rooting of 'Hosui' Japanese Pear. *Horticulture Science*, 39(7), 681-683.
- Kalinina, A., & Brown, D. (2007). Micropropagation of ornamental *Prunus* spp. and GF305 peach, a *Prunus* viral indicator. *Plant Cell Reports*, 26, 927-935.
- Kanokporn, S., & Chonnikarn, K. (2016). Synergistic effects of BAP and kinetin media additives on regeneration of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides* L. Nash). *Australian Journal of Crop Science*, 10(5), 726-731.
- Matani Borkheyli, M., Miri, S. M., & Nabigol, A. (2021). In vitro multiplication and rooting of GF677 rootstock. *Journal of Horticulture and Postharvest Research*, 4(2), 243-252.
- Nadra, K., Maqsood A., Ishfaq, H., Nadeem, A., Shaghef, E., & Muhammad A. (2015). Optimizing the concentrations of plant growth regulators for in vitro shoot cultures, callus induction and shoot regeneration from calluses of grapes. *Journal international des sciences de la vigne et du vin*, 49, 37-45.
- Ravoniarison, N. E., & Ephrem, L. M. (2014). Effects of growth regulators 6-Benzylaminopurine and - γ Naphtalene Acetic Acid on the in vitro shoot multiplication from nodal segment of *Medinilla mandrakensis* (Melastomataceae). *International Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 3(1), 504-510.
- Saiqa, I., Shagufta, N., Sumeera, J., Kiran, S., Amna, M., & Aamir, A. (2013). Influence of cytokinins, sucrose and pH on adventitious shoot regeneration of (*Polyscias balfouriana*). *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(42), 3098-3104.
- Sischa, A., Putri, A., Z, Nintya S., & Yulita, N. (2024). Effect of benzyl amino purine (BAP) on the leaf growth of *Vanda limbata* blume orchid in vivo. *Journal of Sustainable Agriculture*, 39(1), 107-116.
- Wegayehu, F., Firew, M., & Belayneh A. (2017). Micropropagation of Peach, *Prunus persica* (L.) Batches. cv. Garnem. *African Journal of Biotechnolog*, 16(10), 490-498.
- Yuniastuti, E., Chintiana, D. G., Sukaya., & Putri, I. I. S. (2022). Effect of NAA and BAP concentrations on rambutan growth (*Nephelium lappaceum* L.) in Vitro. *Earth and Environmental Science*, 1107, 1-10.